

INTERNATIONAL UNIVERSITY OF AFRICA
DEANSHIP OF GRADUATE STUDIES
FACULTY OF PURE AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

**DETECTION OF HEPATITIS A AND E IN WATER AND
STOOL SAMPLES IN KHARTOUM STATE**

**A dissertation Submitted in Partial Fulfillment
For The Requirement of Master Degree of Sciences in
Microbiology**

By
EL Seddeg El Nile Khider Yousif
B. Sc. Om Durman Islamic University, 2008

Dr. Monier Nasir Hamidan

2017

DEDICATION

To My father and My mother

To My brothers and my sisters

To My teachers To my Colleagues

To candles that burn to light up for others

To everyone who taught me characters

I dedicate this humble research to the Allah

Almighty to find acceptance and success

Acknowledgements

I am grateful to Dr. Monier Nasir Hamidan for approving and supervising my research. Also thank Dr. Khaled , Omdurman Islamic University and Hamza , the Center of Laboratories Khartoum State

ABSTRACT

The aim of this study was to identify the viral hepatitis E viruses and hepatitis A virus present in drinking water and faeces in Khartoum State. 50 samples of drinking water were randomly collected from different areas of Khartoum State. Taps - Tanks, restaurants, cafeterias and water in sterile containers. Samples were concentrated using ammonium hydroxide. Thirty-seven samples of diarrhea were collected randomly from a number of hospitals in Khartoum State (Ibrahim Malik Hospital, Bachir Hospital, Omdurman Hospital and Bahri Hospital) from children aged 1 to 12 years in sterile containers and placed in bags containing ice And then transferred to the laboratory and kept in a refrigerator in the freezing degree until the test.

The results of the ELISA showed that among 50 samples of water samples, 11 (22%) positive for hepatitis E and 17 (34%) positive for hepatitis A virus. In the stool samples, the results showed that 37 stool samples 12 (32%) positive for hepatitis E and 10 (27%) positive for hepatitis A stool samples.

The PCR was then tested for all positive samples of water samples, stool samples of hepatitis E and hepatitis A virus, and the results were as follows: 2 (18%) positive water sample of hepatitis E virus and 3 (25%) sample Positive Stools. Of the hepatitis E virus, while in the case of hepatitis A, 3 (17.6%) positive water sample and 1 (10%) positive stool sample.

المستخلص

هدفت هذه الدراسة إلى التعرف على فيروسات التهاب الكبد الوبائي الفيروسي النوع ي وفيروس التهاب الكبد الوبائي النوع أ الموجودان في مياه الشرب والبراز في ولاية الخرطوم. تم جمع 50 عينة من مياه للشرب بصورة عشوائية من مناطق مختلفة من ولاية الخرطوم . حنفيات – خزانات ومطاعم وكافتيريات ومياه سبيل في حاويات معقمة. وتم تركيز العينات باستخدام طريقة هيدروكسيد الامونيوم . وتم جمع 37 عينة براز سائلة (اسهال) بصورة عشوائية من عدد من المستشفيات بولاية الخرطوم (مستشفى إبراهيم مالك ’ مستشفى بشائر ’ مستشفى بحري و مستشفى أم درمان) من أطفال من عمر سنة إلى 12 سنة في حاويات معقمة ووضعت في حافظات تحتوي علي ثلج ومن ثم نقلت إلى المعمل وحفظت في ثلاجة في درجة التجميد إلى حين إجراء الاختبارات عليها.

أظهرت نتائج اختبار الفحص المناعي (ELISA) أنه من بين 50 عينة من عينات المياه، 11 (22%) إيجابية لفيروس الكبد ي و 17 عينة (34%) إيجابية لفيروس الكبد أ. وأيضاً باستخدام اختبار الفحص الناعي ، في عينات البراز، أظهرت النتائج من بين 37 عينة براز 12 (32%) إيجابية لفيروس الكبد ي و 10 (27%) عينة براز إيجابية لفيروس الكبد أ .

ثم تم إجراء اختبار البلمرة المتسلسل (PCR) لجميع العينات الإيجابية من عينات المياه وعينات البراز لفيروس الكبد النوع ي وفيروس الكبد النوع أ ، وكانت النتائج كما يلي 2 (18%) عينة مياه إيجابية لفيروس الكبد النوع ي ’ و 3 (25%) عينة براز إيجابية. لفيروس التهاب الكبد النوع ي , أما في حالة فيروس الكبد النوع أ , 3 (17.6%) عينة مياه إيجابية ’ و 1 (10%) عينة براز إيجابية.

TABLE OF CONTENTS

TITLE PAGE	I
DEDICATION	Ii
ACKNOWLEDGEMENTS	Iii
ENGLISH ABSTRACT	Iv
ARABIC ABSTRACT	V
LIST	1
INTRODUCTION	2
GENERAL OBJECTIVE	2
SPECIFIC OBJECTIVE	3
CHAPTER	3
I	3
LITERATURE REVIEW	3
Hepatitis e virus	3
Morphology and physicochemical properties	3
HEV classification	4
Genome and proteins	4
Transmission	5
Symptoms	6
Diagnosis	7
Epidemiology	8
Outbreak	9
Treatment	10
Prevention	11
Hepatitis a virus	11
Morphology and physiochemical properties of	12
Hepatitis a virus	
HAV classification	12
Genome and proteins of hepatitis a virus	13
Transmission	13
Symptoms	13
Diagnosis	14
Treatment	14
Prevention	14
II	16
MATERIALS AND METHODS	16
Materials	16
Sampling Techniques and Sampling Size	16
Methods	16
Water Sample Processing	16
Stool Sample Processing	17
Virus Concentration by Aluminum hydroxide	17
Al(OH) ₃ and Filters.	
Reagents	17

Equipments	17
Preparation of Al (OH) ₃ Precipitate	17
Centrifugation Method	18
Filtration Method	18
Limitations of these Methods	19
Enzyme–Linked Immuno sorbent Assay (ELISA) for Hepatitis E Antigen	20
Components	20
Assay Procedure	21
Interpretation of results and quality control	22
Enzyme–Linked Immuno sorbent Assay (ELISA) for Hepatitis A Antigen	22
Assay Procedures for Hepatitis A	23
Sample preparation	23
Test protocol	23
Calculation of cut-off value (C.O) = NC + 0.26	24
RNA Extraction using kit (qiagen, Germany)	24
Complementary DNA Synthesis (cDNA)	25
Procedure	25
Nested Polymerase chain reaction (PCR) for detection of HEV genome	25
III RESULTS	28
Stool samples	28
HEV	28
Identification of HEV antigen in stool Samples using ELISA	28
HAV	29
Identification for HAV antigen in Stool Samples using ELISA	29
Co-infection	29

Water samples	29
HEV	30
HAV	31
Co-infection	31
Molecular detection	32
HEV	32
HAV	33
IV DISCUSSIONS AND RECOMMENDATIONS	35
Discussions	35
Recommendations	37
References	38
APPENDICES	45
HEV antigen ELISA Protocol	46
HAV antigen ELISA Protocol	51